

味覚情報伝達に及ぼす酵素の働きと塩味増強評価システムの開発

植野 洋志

龍谷大学 教授, 奈良女子大学名誉教授

講演者は酵素の働きについて分子レベルで研究を進めてきた。しかし、最近では、講演者が考えていた酵素と基質との相互作用の研究より、酵素そのものが生体内でどのような作用をしているのか、という少しマクロな領域での酵素学に注目している。その過程において、小さな発見があり、今回の講演につながったので、その経緯を含めて概略を述べたい。

1. 酵素について⁽¹⁾

今回の中心は、 γ -アミノ酪酸 (GABA) の合成に関与するグルタミン酸デカルボキシラーゼ (GAD) という酵素である。GAD はグルタミン酸というアミノ酸を基質として GABA を合成するが、同時に二酸化炭素もつくる。グルタミン酸はうま味成分として知られているが、中枢神経系では興奮性神経伝達物質である。GABA は反対に抑制性神経伝達物質である。神経伝達物質とは、神経細胞同士がシナプスというところで繋がっている訳であるが、信号を伝える側から放出される化学物質のことで、信号を受け取る側の細胞表面には受容体が備わっている。化学物質が特定の受容体と結合することで、神経の信号が伝わり、受け取った側の細胞内でその信号を処理する生理的な応答が起こることになる。神経伝達物質にかかわる酵素は限られており、その中でも基質と産物が正反対の性質を示すものは大変珍しい。

高等動物の GAD の作用は神経伝達物質としてだけではなく、糖代謝で中心的役割をなすクエン酸回路に併設されている GABA シヤントは、酸素分子の存在の有無に関わらず機能しているとされるが、GABA シヤントの中心に位置するのが GAD であり、代謝系で重要な役割を担っているとされる。

高等動物において GAD がさらに重要とされるのは、二つの独立した遺伝子が存在し、それぞれが同一の酵素活性を示すアイソフォームタンパク質 (GAD65 と GAD67) を産生することである。神経細胞のように同一の細胞で両方のアイソフォームが発現したり、皮膚や消化器系ではどちらかのアイソフォームを優先して発現したりしている。ノックアウトマウスの研究より、GAD65 は神経系で、GAD67 は代謝系で主たる役割をなしているとされるが、遺伝子の発現様式、アイソフォームタンパク質の細胞内輸送、基質特異性の違い、酵素活性制御機構など詳細は不明である。

アイソフォームタンパク質は高等動物間ではアミノ酸配列の相同性が保存されている。同じ動物のアイソフォーム間での相同性よりも異なる動物のもつそれぞれのアイソフォームの間での相同性の方が高いことが判明している。アミノ酸配列のどこにアイソフォームの違いが埋め込まれているのかについては、N 末端から 100 残基の領域 (第 1~3 エクソンに相当する) で極端に相同性が低く、残りの領域の相同性が高い。触媒部位を構成するアミノ酸残基はすべてこの残りの部分に存在する。これより、N 末端領域にアイソフォームの機能や細胞内での局在性の違いが埋め込まれているとされるが、まだまだ検討中である。

GAD の詳細を紹介したが、本講演では、味覚に GAD67 の関与を発見したので、味覚についてのバックグラウンドを提供する。

2. 味覚と味蓄の仕組みについて

味を感じる仕組みについてタンパク質化学の観点から述べておきたい (他の講師が詳細を紹介されるであろう)

う)。基本的にヒトが感じる味覚は五味(苦味・甘味・うま味・酸味・塩味)とされる。五味には、それぞれの味質を提供する味覚物質なるものがある。いわゆる食品成分である。単独であるいは複数で五味の一部あるいはいくつかの味質をまたがった味を提供するであろう。研究者は、複数の味質を提供するものは複雑であるので、単独の成分で味質を提供するものを用いて研究してきた。五味の代表として、苦味にはキニーネ、甘味にはショ糖、うま味にはMSG(グルタミン酸ソーダ)、酸味にはクエン酸、そして、塩味には食塩である。味物質を受けとり、その信号を脳に伝える仕組みが我々の舌に組み込まれている。乳頭と呼ばれるぼつぼつである。乳頭の中には、味を感じる細胞である味蕾細胞が詰まっている。解剖学的には、味蕾は玉ねぎのように100以上の細長い細胞が寄り集まって一つの乳頭を形成している。ヒトでは、有郭乳頭、葉状乳頭、茸状乳頭、そして、糸状乳頭の四種類がある。そのうち、糸状乳頭以外の乳頭が実際に味を感じる仕組みを持っているとされる(図1)。味蕾細胞に味物質が結合することで、味覚神経を経由して脳に信号が伝わり、脳の中で形成されている味の記憶様式と照らしあわせて、味質が感知されることになる。脳の中での味の記憶は幼児期には確立するとされる。幼児期の食育の重要性が叫ばれる理由であろう。

分子生物学の進歩により、味物質を受け取る部位が味蕾の表面に発現しているタンパク質であることが判明した。受容体タンパク質と呼ばれ、二種類の受容体タン

パク質として区別される。苦味・甘味・うま味の受容体はGタンパク質共役型(GPCR型)受容体で、膜貫通型であり、細胞外にでている部分が味物質との結合部位をもち、細胞内の部分がリン酸化を介して細胞内に信号を伝達する役割を担っているとされる。通常、単量体あるいは、二量体で機能する。これに対して、イオンチャンネル型受容体が酸味と塩味を担当する。酸物質は通常酸味を呈するが、酸そのものはプロトン、つまり、酸性度を表す物質と深く関係している。プロトン濃度は、pHという定数で定義されており、常にイオン化しているのが特徴である。塩味を呈する物質である食塩に関しても同様に、食塩はNaClと表記されるが、実際には常にイオン化し、ナトリウムイオンとクロライドイオンに分かれている。プロトンを通り過ぎたり、塩味を呈する主成分のナトリウムイオンを通り過ぎせるトンネルの役割をなすのがイオンチャンネルであり、通常、タンパク質分子がいくつか組み合わせられて細胞膜に埋め込まれてトンネルを形成する。味物質が細胞表面の受容体部分に結合すると、トンネルの穴の大きさが変化し、イオンが外部から内部へ、あるいはその逆方向に流れる仕組みである。細胞内のイオン濃度の変化が何らかのセンサーの仕組みで感知され、それが信号となり脳に送られることになる。興味深いことに、酸味と塩味を発現する細胞には神経とのシナプス結合がみられるが、GPCR型の受容体を発現する細胞とは神経の直接の結合が見られないとされる。現在、ゲノム解析などが発展し、分子レベルにて受容体タンパク

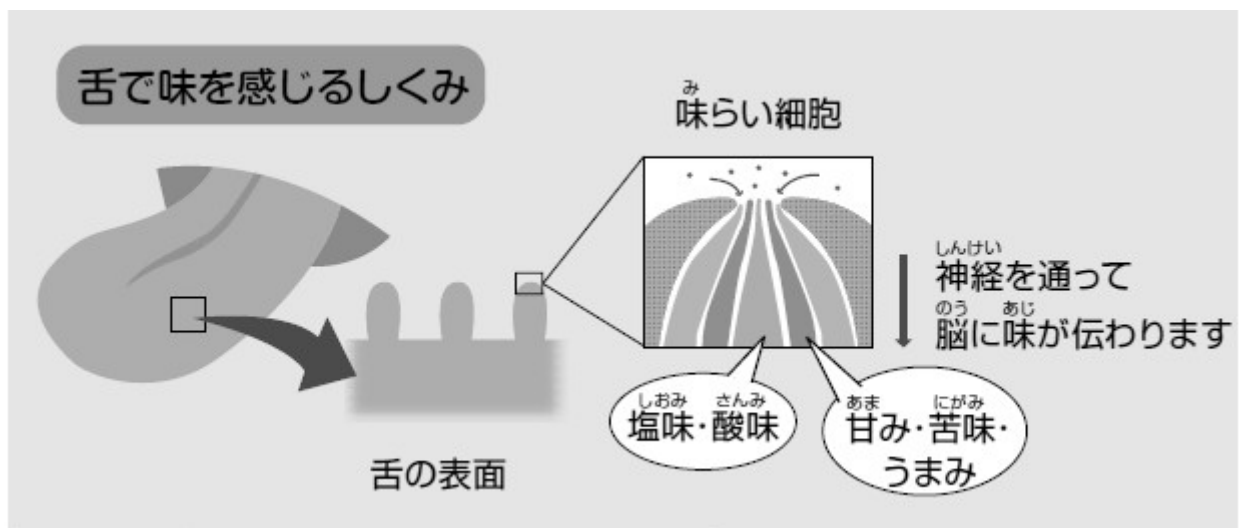


図1. 舌から脳に味が伝わる仕組み

質が研究されている(一般的な解説は⁽²⁾)。個々の味質に対応する受容体遺伝子が同定され、その遺伝子をなんらかの組織培養できる細胞を宿主として組換え体タンパク質として発現する系が構築されている。それらの発現細胞では、味物質との結合をカルシウムイオンの細胞内への取り込みや細胞自体に電極を取り付けて応答を電気信号で解析(電気生理学)するなどができる。実際の味蕾細胞をモデル化するものであるが、細胞そのものが異なるので、味細胞で生じる現象をすべて再現するまでには至っていないし、解釈には注意が必要である。

味蕾細胞はそれぞれの特徴より四種類(I~IV型)に区別されている。I型は支持細胞、II型は苦味・甘味・うま味受容体を発現する細胞、III型は酸味・塩味受容体を発現する細胞、IV型は幹細胞である。近年、I型にも味覚受容能力があるという報告がある。味蕾の組織培養はまだできていない。さらに、味蕾細胞のターンオーバー(寿命)は10日ほどと非常に短い。しかし、味蕾細胞の成長(幹細胞がI~III型へ成長する様子)に関しては、まだ不明な点が多く今後の課題とされる。

味の信号については、味蕾細胞から発する電気信号の変化を観察することで理解しようとされている。いわゆる電気生理学の研究である。タンパク質レベルでの味の伝達機構についてはほぼ未解決である。一般にリン酸化カスケードが形成されていると想像されているが、まったくタンパク質が捉えられていない。味の情報が味神経にどのように伝達されるのかについては、これまでセロトニンが候補に挙がっているが、セロトニン合成酵素の存在などに関しても未解決である。近年、II型細胞からATPが放出され、ATPが情報伝達物質であるということも明らかになってきた⁽³⁾。しかし、ATPだけではすべてが説明できていない。

味覚受容体タンパク質の立体構造については、まだ解明されていない。ただ、膜貫通型であり、外部にかなり大きなループ状、もしくは、きちんと立体構造を保つように形作られていると想像できる。タンパク質は揺らぎがつきものであるが、揺らいでばかりでは特定の物質に対するポケットが形成できない。ポケットが形成できるから、味覚物質を識別できるのである。甘味受容体を例にとると、アスパラテームはアミノ酸様甘味物質であり、モネリンはタンパク質様甘味物質である。当然、リガンド結合

部位は共有されるとは限らない。それぞれが独立した結合部位をもっていると考えるのが妥当と思える。ひょっとすると、免疫抗体IgGのように甘味物質にカスタマイズされた甘味受容体が存在するかもしれない。温度によりタンパク質は性質を異にする。また、pHも同様にタンパク質の構造に寄与する因子である。両方ともに食べ物が備えているので、より問題を複雑とする。我々の味の認識はそのような不確定な要因(ファジーさ)を鑑みて決定されているので、すばらしい。

味覚の不思議さについて触れておく。味の相乗効果がある。うま味ならば、グルタミン酸ソーダ、イノシン酸、グアニル酸がある。それぞれ単独で味わうよりも、混合するとうま味が増強される。この効果のことである。分子レベルではどのように考えてよいのだろうか?同じうま味受容体で、異なる結合部位に結合することで、うま味の信号が増幅されるのであろうか?それとも、異なるうま味受容体にそれぞれが結合することで、信号が集約されてうま味が増幅がなされるのだろうか?味の対比効果というのがある。少量の食塩によりうま味や甘味が増強されることである。この場合は、うま味や甘味の受容はII型細胞でなされ、塩味はIII型細胞でなされるので、明らかに異なる受容体と異なる細胞間での情報伝達の結果である。味質を「だます」ことは現代社会では重要なことで、例えば、糖質ではない物質が甘味を供すれば、低カロリーの甘味料になり、食塩など塩分を呈しないが塩味を感じれば、減塩につながる。これら味を「だます」原理が味の情報伝達機構の理解から実際に我々の食生活に応用できるのではなかろうか。

3. GAD67の味蕾での局在性とその意味

我々は、生理学研究所の小幡邦彦教授・柳川右千夫助教授(当時)らが開発したGAD67/GFPノックインマウス(GAD67遺伝子をオワンクラゲ由来の緑色蛍光タンパク質GFP遺伝子に置き換えた遺伝子改変マウス)を用いてIII型味蕾細胞に活性をもつGAD67の発現を見出した⁽⁴⁾。さらにGABA受容体(クロライドイオンチャンネル)の存在も明らかにした。この結果は、GABAが味覚の情報伝達に関与する可能性があること。さらに、クロライドイオンが塩味に関与する可能性を示唆している。そこでヒトによる官能試験を行い、GABAには味質が

あり、GABA を五味にそれぞれ添加してみると、塩味が強まることが判明した⁽⁵⁾。この研究結果をもとに、GAD 活性を変化させることで GABA 量が変わり、塩味に影響(改変)する可能性を追求するきっかけとなった。

4. GAD 活性を制御する天然物由来の成分と塩味との関係

上述のように、GAD67 という酵素と GABA が塩味の信号伝達に関与する可能性が示せたことで、細胞内での GABA 産生に揺らぎを与えることができれば、塩味にも効果があるのではないかと考えた。そこで、試験管レベルではあるが、GAD67 活性に影響を与える物質を天然物より求めた(一例として図 2)。香辛料はすでに食材として用いられ、安全性が明らかになっていることより、香辛料を中心に成分を抽出して、GAD67 活性への影響を酵素学的に検討した。その結果、活性化するものから、強く阻害するものまで幅広い香辛料抽出物のライブラリーが得られた⁽⁶⁾。そこで、実際にこれら活性化から阻害を示した抽出物を官能試験した結果、GAD67 活性を上昇させるものは塩味を強め、反対に GAD67 活性を阻害するものは塩味を弱める傾向にある関係が統計的に示すことができた⁽⁷⁾(図 3)。この結果より、GAD67 酵

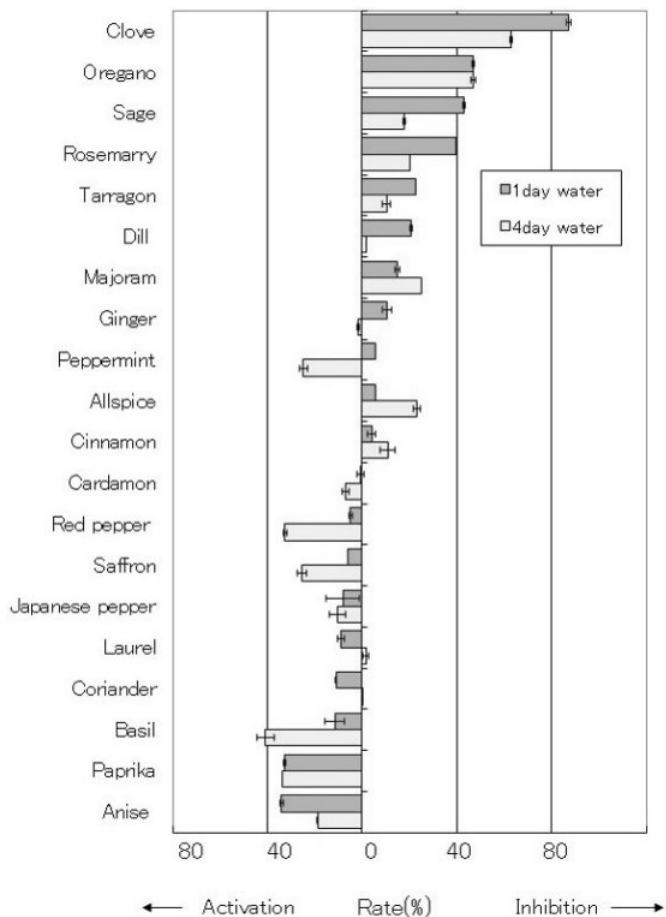


図 2. 酵素活性に影響を与えた香辛料抽出物の例

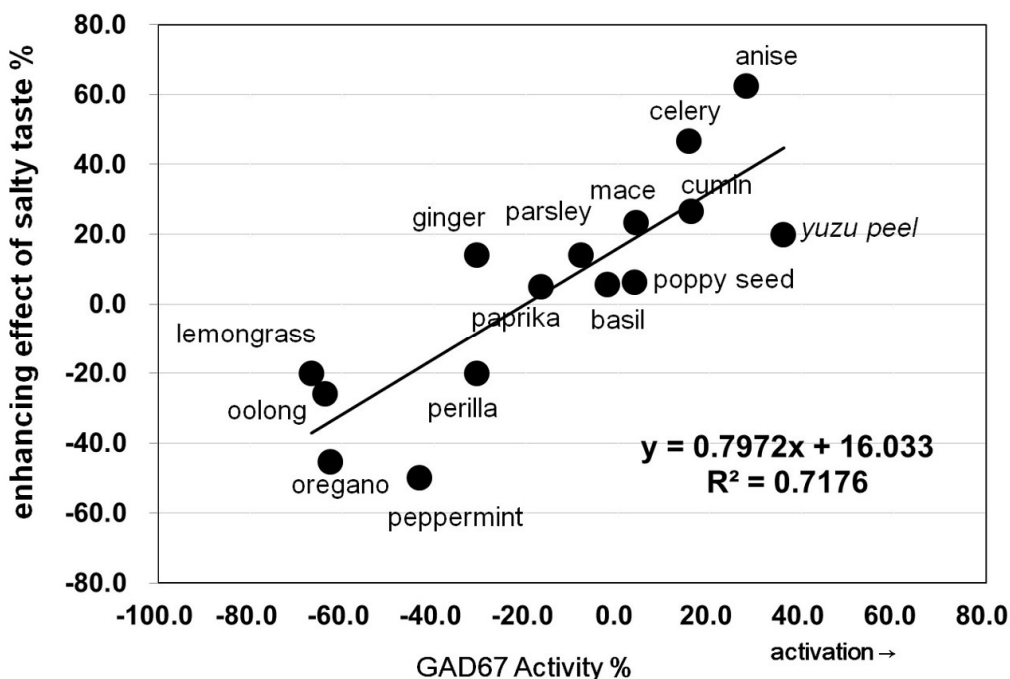


図 3. 香辛料が与える GAD67 活性への効果と塩味増強効果の相関図⁽⁷⁾

素活性を指標とすれば、食素材から塩味増強剤となる物質を探索できる評価システムが構築できることになる^(8,9)。

4. おわりに

現代社会にあつては、ヒトの生命原理が飛躍的に解明され、これまでは単に成長を目的にされてきた食が「食べて健康で長生き」できるためのものであることが認識されている。その中で、まだまだ問題視されている生活習慣病の予防として減塩がある。残念ながら、減塩を追及すると、食事のうま味が損なわれる。つまりは、対比効果を殺してしまうのである。GABA がクロライドイオンを介する塩味の情報伝達に関与していることで、この対比効果が引き出せているのかもしれない。GAD を用いる評価システムが新たな減塩への取り組みの窓口になれば幸いである。

参考文献

- (1) Ueno, H. (2000) Enzymatic and structural aspects on glutamate decarboxylase. *J. Mol. Catalys. B: Enzym.* **10**, 67-79
- (2) 二ノ宮裕三 (2007) 食の調節情報としての味覚とおいしさのシグナリング. *化学と生物* **45**, 419-425
- (3) Finger, T. E., Danilova, V., Barrows, J., Bartel, D. L., Vigers, A. J., Stone, L., Hellekant, G., and Kinnamon, S. C. (2005) ATP signaling is crucial for communication from taste buds to gustatory nerves. *Science* **310**, 1495-1499
- (4) 中村友美, 柳川右千夫, 小幡邦彦, 渡辺正仁, 植野洋志 (2006) GABA is produced in taste bud. *日本味と匂誌* **13**, 547-550
- (5) Wada, K., Nitta, Y., and Ueno, H. (2006) Effect of GABA on taste sensory as judged by taste test. *家政学研究(奈良)* **53**, 1-6
- (6) 中村友美, 植野洋志 (2009) グルタミン酸脱炭酸酵素(GAD)を介した味覚シグナル伝達経路:うま味と塩味の相互作用, いわゆる”隠し味の原理”にせまる. *化学と生物* **47**, 370-372
- (7) Hisaki, K., Hamano, K., and Ueno, H. (2014) Screening and identification of food extracts that are useful for reducing salt intake - An approach from a GABA-synthesizing enzyme -. *J. Biol. Macromol.* **14**, 3-14
- (8) 植野洋志 (2011) 塩味増強方法および塩味増強剤. 特許第4845067号
- (9) 植野洋志 (2014) 「減塩食品開発を目指して—天然物由来成分の塩味増強効果を定量的に評価するシステム開発」の経緯とその後. *化学と生物* **52**, 742-748

講演者略歴

植野 洋志(うへの ひろし)

龍谷大学農学部 教授・奈良女子大学名誉教授

1974年京都大学工学部石油化学科卒業(福井謙一教授に師事)。米国ブランダイス大学大学院修士課程、アイオワ州立大学大学院博士課程(Ph.D.) (David E. Metzler 教授に師事)を経て、1982年米国ロックフェラー大学助手(Stanford Moore—James M. Manning 研究室)、1984年同大学ロックフェラー財団フェロー、1986年同大学助教授。この間、1984より1994年まで米国ウッズホール臨海生物研究所夏期研究員、1989年より1992年までニューヨーク心臓協会研究員を兼ねる。1991年大阪医科大学助教授。1994年京都大学助教授。2000年奈良女子大学生生活環境学部教授。2004年より2007年まで同大学附属中等教育学校長を併任。2015年に同大学を定年退官し現在に至る。日本生物高分子学会会長。日本農芸化学会、日本味と匂学会、日本生化学会、日本ビタミン学会などに所属。1950年生まれ。

著書(抜粋)

- 1) *Molecular Aspects of Enzyme Catalysis*, 分担執筆, Kodansha, Tokyo (1994).
- 2) *High Pressure Food Science, Bioscience and Chemistry*, 分担執筆, Royal Society of Chemistry, England (1998).
- 3) バイオテクノロジーシリーズ 食品酵素化学の最新技術と応用 II -展開するフードプロテオミクス-, 分担執筆, シーエムシー出版 (2011).
- 4) *Amino Acids in Human Nutrition and Health*, 分担執筆, CABI, London (2011).